

Н. В. Добреля¹, Н. С. Гула², Т. А. Карацуба¹, О. С. Хромов¹

Перспективи використання ліпосомальної форми цитохрому С для поповнення гострої масивної крововтрати

¹ДУ «Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України», м. Київ

²Альбертський університет, м. Едмонтон, Канада

Ключові слова: гостра масивна крововтрата, ліпосомальна форма цитохрому С

Кровотеча та, як наслідок, крововтрата є причиною близько 28 % смертей, які пов'язані з травмою [1, 2].

Гостра масивна крововтрата (ГМК), за якої об'єм втраченої крові не менший, ніж 30 % об'єму циркулюючої крові (ОЦК), призводить до гіповолемії, падіння артеріального тиску з подальшим розвитком стійкої гіпотонії, гіпоксії, синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові (ДВЗ-синдрому), прояву ознак поліорганної недостатності та метаболічного ацидозу [3, 4]. Основними фізіологічними реакціями організму на крововтрату є централізація кровообігу, компенсаторна аутогемодилуція, активація гемопоєзу, збільшення хвилинного об'єму крові, гіперкоагуляція. За таких умов централізація кровообігу, що забезпечує функціонування життєво важливих органів, ґрунтується на тривалому та вираженому спазмі прекапілярних артеріальних сфінктерів і посткапілярних венул, що призводить до зниження кровотоку в нирках, печінці, м'язах, накопичення в них недоокиснених продуктів обміну та вазоактивних речовин [5]. Гіперкоагуляція, що підвищує гемостатичний потенціал крові та сприяє підтриманню гемостазу в пошкоджених судинах, за масивної крововтрати трансформується в важку патологію – ДВЗ-синдром, коли рівновага між механізмами тромбоутворення та фібринолізу порушується [6]. Цьому сприяють тканинна гіпоксія, ацидоз, зниження мікроциркуля-

ції, агрегація елементів крові, ендотоксикоз, значна травма тканин [7]. Погіршення реологічних властивостей крові в умовах метаболічного ацидозу сприяє утворенню складів з формених елементів крові, що повністю блокує мікроциркуляторне русло, зумовлює ще більше зменшення ОЦК та прогресування гіпоксії [8]. На зміну централізації кровообігу приходять ефект децентралізації – виникає стійка гіпотонія, знижується діурез, розвивається гемодилуція та респіраторний дистрес-синдром, прогресивно зменшується серцевий викид [9, 10]. У наслідок важкої гіпоксії органів і тканин замість спазму судин виникає їхнє розширення та переповнення застійною кров'ю, що різко збільшує ступінь гіповолемії.

Основою лікування ГМК є своєчасна й адекватна інфузійно-трансфузійна терапія, основні завдання якої – відновлення ОЦК, нормалізація мікроциркуляції та реології крові, усунення дефіциту інтерстиціальної рідини, корекція порушень системи гемостазу та профілактика або усунення гіпоксії з урахуванням сучасних уявлень про толерантність до анемії-гіпоксії [11–14]. Враховуючи статистику смертності, загальноприйняті методи лікування, у тому числі й масивна трансфузійно-інфузійна терапія, часто виявляються неефективними, отже існує необхідність подальшого вивчення механізмів ГМК та пошуку нових підходів і фармакологічних препаратів, спрямованих на підвищення ефективності терапії геморагічного шоку [15, 16].

Перспективним для корекції ГМК може виявитися препарат, в якому будуть поєднані антигіпоксичні, мембранотропні, детоксикуючі властивості

ліпосом з компонентами дихального ланцюга. Експериментальні та клінічні дослідження свідчать, що фосфатидилхолінові ліпосоми мають антигіпоксичну, антиоксидантну, мембраностабілізуючу та неспецифічну детоксикуючу дію. Уведення в організм фосфатидилхолінових ліпосом підвищує швидкість дифузії кисню крізь біологічні мембрани, знижує ступінь гіпоксії тканин організму, інгібує вільнорадикальні процеси, знижує концентрацію продуктів перекисного окиснення ліпідів у тканинах [17–19]. Цитохром С, який коригує процеси клітинного дихання, нормалізує окиснювальне фосфорилування та енергозабезпечення клітин, здатний підтримувати фізіологічні показники за ГМК у вигляді водного розчину [20], а в разі завантаження в ліпосоми проявляє кардіопротекторні властивості [21].

Мета дослідження – вивчити вплив ліпосомальної форми цитохрому С (ліпохрому) на артеріальний тиск та гемостаз за ГМК.

Матеріали та методи. Дослідження були проведені з використанням 70 самців статевозрілих білих лабораторних щурів масою (275 ± 25) г, яких утримували на стандартному раціоні віварію без обмеження доступу до води. Методом випадкової вибірки тварин розділили на 8 груп.

У групах I–V було по 8 щурів. У тварин I групи ГМК не компенсували жодним розчином. Щурам II та IV груп внутрішньовенно (в/в) вводили фізіологічний розчин (ф/р) в об'ємі, що відповідає об'єму втраченої крові, тваринам II групи – через 5 хв, щурам IV групи – через 30 хв після ГМК. Щурам III і V груп після ГМК в/в вводили ліпосомальну форму цитохрому С (ліпохром) у дозі 5 мг / 100 г за фосфоліпідом в об'ємі ф/р, що відповідає об'єму втраченої крові, наступним чином: щурам III групи – через 5 хв, щурам V групи – через 30 хв після крововтрати.

Тварин VI–VIII груп використовували для дослідження гемостазу. У 14 щурів VI групи крововтрату не компенсували жодним розчином. Кров для аналізів була взята перед крововтратою, через 30 і 45 хв після кровопус-

кання. 8 щурам VII групи в/в вводили ф/р через 30 хв після крововтрати в об'ємі, що відповідає об'єму втраченої крові. 8 щурам групи VIII в/в вводили ліпохром у дозі 5 мг/100 г за фосфоліпідом в об'ємі ф/р, що відповідає об'єму втраченої крові. Кров для аналізів у тварин VII–VIII груп була взята перед крововтратою та через 30 хв після введення розчину.

Маніпуляції з тваринами проводили відповідно до законодавства України [22], правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою [23].

Усіх тварин виводили з експерименту шляхом в/в введення летальної дози хлориду кальцію (3 мг/кг).

Знеболювання та операційна підготовка. Знеболювання в тварин проводили за допомогою суміші хлоралоу й уретану (1:10 за масою, 2 мг/кг за хлоралоу, внутрішньоочеревино). Тварин у хірургічній стадії наркозу розташовували на термостабілізованому операційному столі та проводили хірургічну підготовку – трахеотомію, катетеризацію *a.a. carotis comm., v. jugularis sin.*

Тиск крові в лівій сонній артерії вимірювали датчиками тиску ISOTEC (HSE, Німеччина) з наступним підсиленням і диференціюванням отриманих сигналів за допомогою підсилювача DBA, тип 660 (HSE, Німеччина) і пристрою DIF, тип 664 (HSE, Німеччина). Оцифрування даних здійснювали аналогово-цифровими конверторами Power Lab 4/30 (ADInstruments; Австралія) та ADC (HSE, Німеччина). Обробку сигналів, що одержували, проводили за допомогою програм «Chart 5» (ADInstruments, Австралія).

Моделювання ГМК у щурів. ГМК проводили в об'ємі 2,5 мл/100 г зі швидкістю 2 мл/хв, що загалом становить близько 35 % від загальної кількості циркулюючої крові [24–26]. Кров була відібрана з катетеризованої лівої сонної артерії.

Дослідження системи згортання крові. Кров була зібрана з сонної артерії до початку кровопускання та через 30 та 45 хв після нього (група VI) або

через 30 хв після поповнення крововтрати (групи VII–VIII) у пробірки з 3,8 % цитратом натрію (Vascutest Kima, Італія). Виділено плазму з використанням центрифуги MPW – 340 (Mechanika Precyzyjna, Польща). За допомогою коагулометра K-3002 OPTIC (Ksel Med, Польща) визначали тромбінний час (ТЧ), протромбіновий час (ПЧ) та активований парціальний тромбoplastиноловий час (АПТЧ).

Методи вивчення кислотно-лужного стану (КЛС) та газів артеріальної крові. Показники КЛС крові визначали на аналізаторі газів Gastat-mini (Techno Medica, Японія) за допомогою картриджів Gastat-mini 981 (Techno Medica, Японія) у крові, яка була зібрана з сонної артерії до початку крововтрати та через 30 хв після неї (група VI) або через 30 хв після введення розчинів (групи VII–VIII).

Параметри, що вимірювали: концентрація водневих іонів (рН), парціальна напруга вуглекислоти в крові (pCO_2), парціальна напруга кисню (PO_2); параметри, що розраховували: бікарбонати плазми (HCO_3), насичення крові киснем (O_2SA), надлишок лугів крові (BE), сума аніонів буферних систем крові (BB).

Використані реактиви та розчини. У ході досліджень були використані: альфа-хлоралоза (Sigma, США), етилкарбамат (уретан, Sigma, США), гепарин (ТОВ Фарма Лайф, Україна), кальцію хлорид (10 % розчин $CaCl_2$, Arterium, Україна), NaCl (Рeахім, Україна), KH_2PO_4 (Sigma, США), NaOH (Sigma, США), ліпохром (ТОВ «Нано-медтех», Україна). Як ліпід для формування ліпосом був використаний яєчний лецитин.

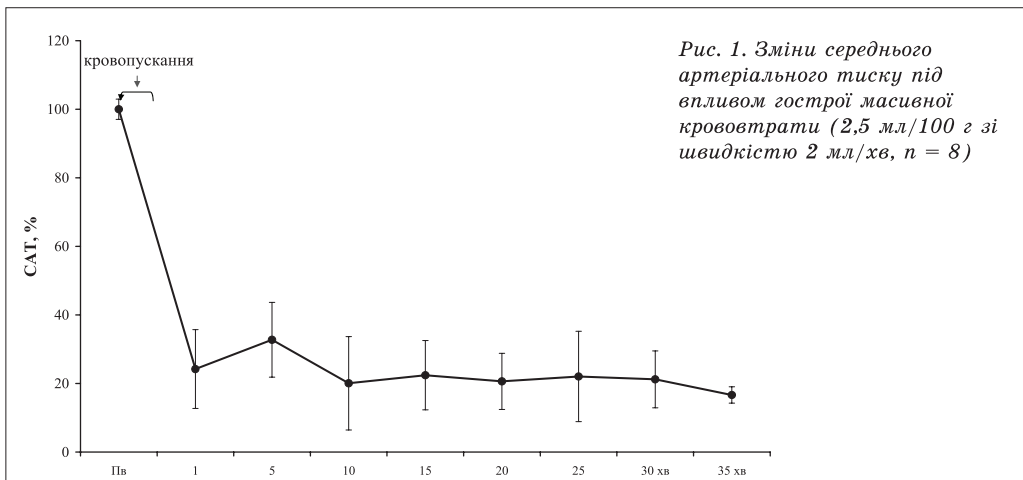
Аналіз та статистична обробка отриманих даних. Фактичний матеріал було оброблено методами варіаційної статистики. Проводили тест на нормальність розподілу Шапіро-Уїлка, нормально розподілені дані обчислювалися за критерієм Стьюдента для залежних вибірок з урахуванням тесту Левена на гомогенність вибірки. Наведені дані представлені у випадку нормального розподілу у вигляді середнього арифметичного (M) та стандартної

похибки середнього арифметичного (m) для певної вибірки (n), у випадку розподілу, що відрізняється від нормального, у вигляді медіани (Med), першого та третього квантилей (Q1; Q3) для певної вибірки (n). Множинні порівняння проводили за допомогою тесту Манна-Уїтні (у разі нормального розподілу), непараметричного тесту Краскела-Уоліса та заключної апостеріорної перевірки за критерієм Ньюмена-Кейлса. Статистично значущими вважалися зміни в довірчому інтервалі не менше ніж 95 % або $p < 0,05$.

Усі розрахунки проводили на персональному комп'ютері з використанням програми Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США).

Результати та їх обговорення. У тварин I групи після ГМК спостерігали значну гіпотонію без періодів стабілізації середнього артеріального тиску (САТ), що свідчить про розвиток геморагічного шоку, який супроводжувався загибеллю всіх тварин протягом ($49,7 \pm 4,4$) хв (рис. 1). Також ГМК призводила до розвитку різноспрямованих порушень у системі згортання крові, які через 30 хв після кровопускання проявлялися підвищеною активністю системи згортання крові, а до кінця періоду спостереження – її зниженням (рис. 2). Враховуючи це, поповнення проводили через 5 та 30 хв після кровопускання, внутрішньовенно зі швидкістю 2 мл/хв.

Виразніше різнонаправлені зміни системи гемостазу відстежуються на прикладі ПТ, який характеризує зовнішній шлях згортання крові. Через 30 хв після крововтрати цей показник скорочується на 31,5 %, що свідчить про посилення коагуляційної активності крові, надалі спостерігали подовження ПТ на 29,7 %, яке характерне для стадії гіпокоагуляції з виснаженням факторів згортання й антикоагулянтів, вираженою гіпофібриногенемією та тромбоцитопенією, а також посиленням фібринолітичної активності [27]. АПТЧ, що відображає шлях внутрішньої активації згортання крові [28], навіть у разі відсутності вірогідних змін за короткий проміжок часу, свідчить про тенденцію до гіперкоагуляції

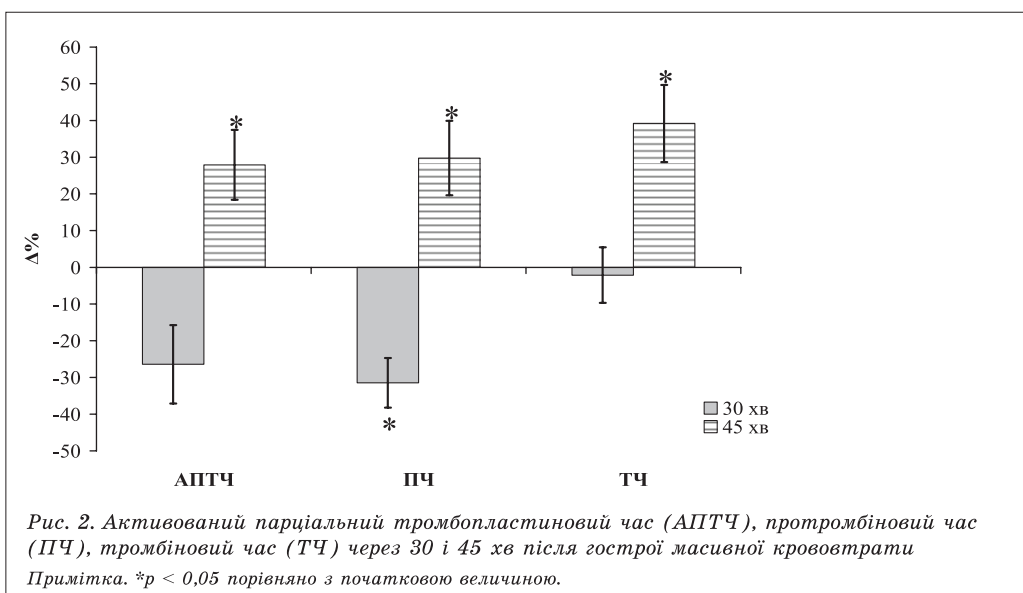


через 30 хв після ГМК та достовірно вказує на гіпокоагуляцію в більш пізній час (рис. 2).

Серед факторів, що сприяють порушенням у системі гемостазу, ацидоз є одним з найважливіших предикторів коагулопатії в травмованих хворих [29], до того ж збільшення проявів ацидозу підвищує ймовірність смерті [30–32]. Через 30 хв після кровопускання поряд із зазначеними порушеннями спостерігали розвиток декомпенсованого метаболічного ацидозу. На користь цього свідчили характерні зміни параметрів КЛС крові (табл. 1). Інші показники також змінювалися характерно для розвитку метаболічного ацидозу: відбувалося зменшення напруги CO_2 ,

зростає дефіцит буферних лугів (BE) в артеріальній крові. Згубними наслідками ацидозу за ГМК є порушення активності ферментів, зменшення концентрації фібриногену, подовження часу згортання крові та збільшення часу кровотечі [33].

Дані дослідження підтвердили незначну ефективність фізіологічного розчину за умов ГМК. Внаслідок швидкого переміщення з судинного русла в інтерстиціальний простір фізіологічний розчин не може підтримувати ОЦК й адекватну гемодинаміку тривалий час після закінчення інфузії та, крім того, може викликати набряк, стимулювати діурез та порушувати водно-сольовий баланс [34]. Введення ізоволемічного об'єму



Параметри кислотно-лужного стану артеріальної крові за гострої масивної крововтрати та її поповнення

Період	Показник					
	pH	pCO ₂ , мм рт. ст.	HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	O ₂ SA, %	BE, ммоль/л	BB, ммоль/л
Початкова величина (n = 8)	7,465 ± 0,003	38,62 ± 0,60	20,52 ± 0,42	99,29 ± 0,01	-0,75 ± 0,04	46,99 ± 0,36
Гостра масивна крововтрата, 30 хв (n = 6)	7,322 ± 0,003*	34,64 ± 0,45*	18,37 ± 0,56*	90,4 ± 0,02	-2,4 ± 0,09*	39,8 ± 0,27
Гостра масивна крововтрата + фізіологічний розчин (n = 6)	7,333 ± 0,004*	36,5 ± 0,24**	19,4 ± 0,44	98,5 ± 0,03#	-5,4 ± 0,06**	42,5 ± 0,38**
Гостра масивна крововтрата + ліпохром (n = 6)	7,442 ± 0,003#	35,64 ± 0,29	24,21 ± 0,28	99,34 ± 0,02#	1,30 ± 0,07#	49,34 ± 0,41#

Примітка. Тут і в табл. 3: *p < 0,05 порівняно з початковою величиною; #p < 0,05 порівняно з групою ГМК.

фізіологічного розчину через 5 хв після крововтрати призводило до майже повного відновлення величини САТ на момент закінчення інфузії. Однак, починаючи з 20 хв спостереження, відбувалося зниження САТ, величина якого досягала критичних значень (табл. 2). З 8 тварин цієї групи до кінця періоду спостереження вижили 5. Поповнення крововтрати фізіологічним розчином на тлі вже декомпенсованого геморагічного шоку зумовлювало

лише короткочасне незначне збільшення тиску крові.

Введення ліпосомальної форми цитохрому С як через 5, так і через 30 хв після крововтрати не викликало нормалізацію САТ (табл. 2, рис. 3, 4), але на кінець періоду спостереження САТ у щурів III і V груп був значно вищий, ніж у тварин, яким вводили фізіологічний розчин. Ліпосомальна форма цитохрому С у зазначеній дозі також практично усувала зміни функціональ-

Таблиця 2

Середній артеріальний тиск після гострої масивної крововтрати та поповнення ліпохромом (%), M ± m, n = 8)

Умова		Початкова величина	Початок введення	Кінець введення	Час після введення препарату, хв			
					15	30	45	60
5 хв після крововтрати	Фізіологічний розчин	112,9 ± 1,6	25,5 ± 0,8	63,9 ± 1,2	65,7 ± 1,5	62,5 ± 1,7	44,6 ± 4,5	36,2 ± 1,2
	Ліпохром	116,4 ± 1,0	21,0 ± 0,4	52,2 ± 1,0 p < 0,05	54,6 ± 4,6 p < 0,05	48,2 ± 5,6 p < 0,05	45,0 ± 5,5 p < 0,05	48,7 ± 5,0 p < 0,05
30 хв після крововтрати	Фізіологічний розчин	127,8 ± 4,4	28,6 ± 1,5	56,3 ± 2,1	35,4 ± 3,1	32,6 ± 4,3	30,5 ± 2,5	29,6 ± 3,0
	Ліпохром	122,4 ± 1,9	21,3 ± 0,7	110,4 ± 2,3 p < 0,05	84,6 ± 2,4 p < 0,05	50,1 ± 5,6 p < 0,05	70,7 ± 1,3 p < 0,05	54,7 ± 1,4 p < 0,05

Примітка. p – вірогідність відмінностей порівняно з показниками групи, що отримала фізіологічний розчин.

Функціональний стан системи згортання крові після гострої масивної крововтрати та її поповнення

Група тварин	Показник			
	активованій парціальний тромбoplastинний час, с	протромбінний час, с	тромбіновий час, с	фібриноген, г/л
Початкова величина (n = 14)	39,4 ± 4,0	41,0 ± 3,7	47,2 ± 4,1	2,07 ± 0,02
Гостра масивна крововтрата 45 хв (n = 8)	50,4 ± 4,8	53,2 ± 5,4*	65,7 ± 6,9	1,77 ± 0,08*
Гостра масивна крововтрата + фізіологічний розчин (n = 8)	168,9 ± 12,6**	35,7 ± 0,9	65,4 ± 5,8	1,36 ± 0,08**
Гостра масивна крововтрата + ліпохром (n = 8)	23,73 ± 2,7*	39,6 ± 4,5#	48,2 ± 5,5	1,89 ± 0,08**

ного стану системи згортання крові та порушення КЛС крові (табл. 1, 3). Разом з тим, зменшення на 39,4 % АПТЧ свідчить про можливе збереження гіперкоагуляції.

Розглядаючи вплив ліпохрому на перебіг гемодинамічних порушень, викликаних ГМК, необхідно враховувати сукупну дію фосфатидилхолінових ліпосом та цитохрому С. Існує велика кількість даних літератури, що підтверджують залежність функціонування клітин, органів та організму в цілому від стану ліпідів мембран, їхнього кількісного та якісного співвідношення та змін під дією різноманітних факторів. Показано ключову роль дерегуляції обміну фосфоліпідів плазматичних мембран у розвитку пошкоджень клітин, а також змін складу фосфоліпідів мітохондріальних мембран, як одного з основних патогенетичних чинників зниження їхньої енергопродукуючої функції та посилення апоптозу клітин головного мозку за умов геморагічного шоку [35, 36].

За умов ГМК важливим маркером деградації клітинних мембран є втрата фосфатидилхоліну, що на початковому етапі може пояснюватися активізацією процесів перекисного окиснення ліпідів і надходженням у кров катехоламі-

нів, стимулюючих розпад фосфатидилхоліну, а в пізнішому періоді особливу вагу може набувати дефіцит холіну, що призводить до порушення синтезу фосфатидилхоліну в печінці. Накопичення лізоформ фосфоліпідів (лізофосфатидилхоліну (ЛФХ), лізофосфатидилетаноламіну та лізофосфатидилсерину) у мембранних структурах свідчить про гіперактивацію фосфоліпаз, недостатню швидкість реакціювання та зменшення активності лізофосфоліпаз [37]. ЛФХ має вазоактивні властивості, пригнічує ендотелій-залежну релаксацію артерій, порушує ендотелій-залежний вазомоторний контроль і спричиняє модулюючий вплив на гормони й агоністи, проведення сигналу від яких здійснюється через певні G-білки й активацію протеїнкінази С [38–40]. Цей фосфоліпід впливає на агрегацію тромбоцитів, індукує експресію генів ростових факторів, включених в атерогенез і запальні процеси [41, 42], регулює експресію молекул адгезії ендотеліоцитами [43, 44]. Таким чином він сприяє подальшому зниженню реологічних властивостей крові та розвитку сладж-синдрому. За рахунок наявності в ЛФХ гідрофільної групи та великої гідрофобної групи він порушує структуру клітинної мембрани, змінюючи її фазовий стан, що,

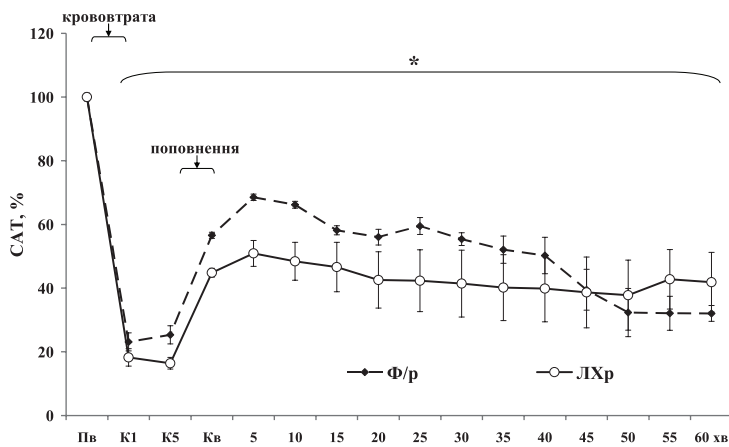


Рис. 3. Зміни середнього артеріального тиску за гострої масивної крововтрати та введення ліпохрому через 5 хв

Примітка. Пв – початкова величина; К1–К5 – час після крововтрати, Кв – кінець введення ліпохрому, *вірогідна відмінність порівняно з початковою величиною.

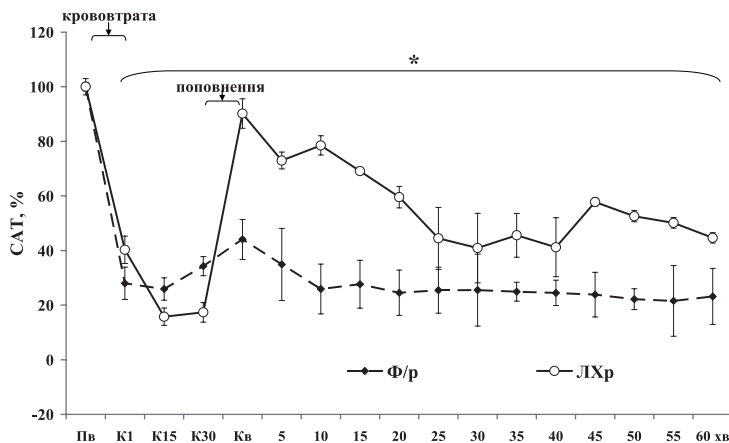


Рис. 4. Зміни середнього артеріального тиску за гострої масивної крововтрати та введення ліпохрому через 30 хв

Примітка. Пв – початкова величина, К1–К30 – час після крововтрати, Кв – кінець введення ліпохрому, *вірогідна відмінність порівняно з початковою величиною.

в свою чергу, впливає на функціональну активність мембранних білків [45, 46]. Нещодавно на кератиноцитах й еритроцитах людини було продемонстровано захистну дію блокатора фосфоліпази А2, що забезпечує синтез ЛФХ за умов оксидативного стресу, та підтверджено роль L- α -ЛФХ як фактора пошкодження клітинних мембран [47]. Введення препарату саме в ліпосомальній формі за умов геморагічного шоку запобігає накопиченню ЛФХ у клітинних мембранних структурах та відновлює вміст фосфатидилхоліну та

фосфатидилінозитулу в плазматичних мембранах клітин печінки та головного мозку [35, 48].

Цитохром С – гемопротеїн, що містить гем типу С, є необхідним компонентом дихального ланцюга [49]. Здатність перехоплювати та знешкоджувати активні форми кисню зумовлює застосування цитохрому С для терапії метаболічних порушень за гострого коронарного синдрому [50, 51], порушень мозкового кровообігу [52], атеросклеротичного ураження периферичних судин, хронічної дихальної недо-

статності [53], залізодефіцитної анемії [54] та інших патологічних станів, пов'язаних з гіпоксією. Цитохром С виходить з мітохондрій за ішемічного пошкодження, а екзогенний цитохром може його заміщувати [55]. Мітохондрії, що втратили ендогенний цитохром С, поглинають екзогенну субстанцію та відновлюють дихальну та фосфорилуючу активність, підтримуючи енергетичний баланс клітини [50].

Перспективи застосування ліпохрому за умов ГМК зумовлені здатністю цієї композиції впливати на взаємопов'язані та взаємозумовлені механізми, що активуються в разі гострої крововтрати, а саме: гіпоксія тканин, активізація процесів вільнорадикального окиснення, пригнічення енергетичного метаболізму, що посилює розладнання центрального та периферичного кровообігу та, зрештою, призводить до розвитку поліорганної недостатності [56, 57]. Підтримання артеріального тиску та нормалізація КЛС за крововтрати після інфузії ліпосомальної форми цитохрому С підтверджує доцільність подальшого вивчення можливостей корекції ГМК за допомогою ліпохрому.

Висновки

Кровопускання з загальної сонної артерії в об'ємі 2,5 мл/100 г зі швидкістю 2 мл/хв викликає розвиток геморагічного шоку, який характеризується вираженою гіпотонією, декомпенсованим метаболічним ацидозом, розвитком ДВЗ-синдрому в стадії гіпокоагуляції, що призводило до загибелі тварин протягом $(49,7 \pm 4,4)$ хв. Розвиток шоку супроводжується різноспрямованими змінами коагуляційного гемостазу: у ранньому періоді спостерігаються ознаки гіпер-, а на пізніх етапах – гіпокоагуляції, що слід розцінювати як початок ДВЗ-синдрому.

Вивчення доцільності застосування ліпосомальної форми цитохрому С за ГМК з метою корекції гемодинамічних порушень показало, що введення ліпохрому в ізоволемічному об'ємі фізіологічного розчину через 30 хв після крововтрати спричиняє помірну гемодинамічну дію та не допускає виникнення декомпенсованого метаболічного ацидозу. Застосування ліпохрому після ГМК запобігає розвитку ДВЗ-синдрому.

Доцільність використання ліпосомальної форми цитохрому С для корекції порушень гемодинаміки та гемостазу за ГМК потребує подальшого вивчення.

1. Клигуненко О. М. Вплив якісних та кількісних змін поповнення крововтрати на прояви синдрому поліорганної недостатності при політравмі / О. М. Клигуненко, Д. А. Криштафор, І. О. Йовенко // Медицина неотложных состояний. – 2017. – № 5 (84). – С. 91–99.
2. Minimizing Preventable Trauma Deaths in a Limited Resource Setting: A Test-Case of a Multidisciplinary Panel Review Approach at the Komfo Anokye Teaching Hospital in Ghana / D. Yeboah, C. Mock, P. Karikari [et al.] // World Journal of Surgery. – 2014. – № 38 (7). – P. 1707–1712.
3. Experimental Models of Hemorrhagic Shock: A Review / A. Fülöp, Z. Turóczy, D. Garbaisz [et al.] // European Surgical Research. – 2013. – № 50. – P. 57–70.
4. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation / M. Levi, C. H. Toh, J. Thachil, H. G. Watson // British Journal of Haematology. – 2009. – № 145. – P. 24–33.
5. Aljedani H. M. Literature Review for Management of Massive Hemorrhage [Електронний ресурс] / Aljedani H. M., Anwar F. // Hematology & Transfusion International Journal. – 2016. – V. 2, Iss. 3. – 8 p. Режим доступу: <http://medcraveonline.com/HTIJ/HTIJ-02-00036.pdf>.
6. Hayakawa M. Pathophysiology of trauma-induced coagulopathy: disseminated intravascular coagulation with the fibrinolytic phenotype / M. Hayakawa // Journal of Intensive Care. – 2017. – V. 5 (14). – [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1186%2Fs40560-016-0200-1.pdf>.
7. Hayakawa M. Management of disseminated intravascular coagulation: current insights on anti-thrombin and thrombomodulin treatments / M. Hayakawa // Open Access Emergency Medicine. – 2018. – V. 10. – P. 25–29.
8. Blood Component Therapy and Coagulopathy in Trauma: A Systematic Review of the Literature from the Trauma Update Group / D. Poole, A. Cortegiani, A. Chierogato [et al.]. <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1513/AnnalsATS.201308-280OC-aff2> // PLoS One. – 2016. – V. 11 (10). – p. e0164090.
9. Acute Respiratory Distress Syndrome. The Berlin Definition / Writing Committee and the Members of the ARDS Definition Task Force // JAMA. – 2012. – V. 307 (23). – P. 2526–2533.
10. Heterogeneous Phenotypes of Acute Respiratory Distress Syndrome after Major Trauma / J. P. Reilly, S. Bellamy, M. G. S. Shashaty [et al.]. <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1513/AnnalsATS.201308-280OC-aff2> // Annals of the American Thoracic Society. – 2014. – V. 11, Iss. 5. – P. 728–736.

11. An approach to transfusion and hemorrhage in trauma: current perspectives on restrictive transfusion strategies / H. Tien, B. Nascimento, J. Callum, S. Rizoli // *Canadian Journal of Surgery*. – 2007. – V. 50. – P. 202–209.
12. The role of vasoactive agents in the resuscitation of microvascular perfusion and tissue oxygenation in critically ill patients / E. Ch. Boerma, C. Ince // *Intensive Care Medicine*. – 2010. – V. 36 (12). – P. 2004–2018.
13. *Johansson P. I.* Current management of massive hemorrhage in trauma [Електронний ресурс] / Pär I. Johansson, J. Stensballe, S. R. Ostrowski // *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine*. – 2012. – V. 20 (47). – 10 p. – Режим доступу до журналу : <http://www.sjtre.com/content/20/1/47>.
14. *Chang R.* Optimal Fluid Therapy for Traumatic Hemorrhagic Shock / R. Chang, J. B. Holcomb // *Critical Care Clinics*. – 2017. – V. 33 (1). – P. 15–36.
15. Low Tissue Oxygen Saturation Is Associated with Requirements for Transfusion in the Rural Trauma Population / M. Khasawneh, M. Zielinski, D. Jenkins [et al.] // *World Journal of Surgery*. – 2014. – V. 38 (8). – P. 1892–1897.
16. Long-Term Outcomes of Patients Receiving Massive Transfusion After Trauma / B. Mitra, B. J. Gabbe, K.-M. Kaukonen [et al.] // *Shock*. – 2014. – V. 42 (4). – P. 307–312.
17. Хромов О. С. Корекція за допомогою ліпосом (ліпіну) порушень центральної гемодинаміки у щурів під час геморагічного шоку / О. С. Хромов, О. В. Стефанов // *Ліки*. – 1995. – № 4. – С. 54–60.
18. *Khromov A. S.* Correction of circulatory and metabolic disorders by phosphatidilcholine liposomes in rats with hemorrhagic shock / A. S. Khromov, A. V. Stefanov // *Hypoxia Medical*. – 2005. – V. 13, № 1–2. – P. 10–14.
19. Хромов О. С. Протигіпоксична та антиоксидантна дія різних фосфоліпідів у ліпосомальній формі / О. С. Хромов, О. В. Стефанов // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. – 2010. – № 5 (18). – С. 24–32.
20. *Андріянова И. Г.* Результаты клинического применения препарата ЦИТОХРОМ С / И. Г. Андріянова, Н. Д. Сидорова, Е. А. Селиванов // *Поликлиника*. – 2011. – № 1. – С. 39–41.
21. Патент РФ № 2110990 (А61К9/127) Липосомальная везикула с цитохромом С / А. И. Шанская, Б. И. Криворучко, Е. В. Булушева [и др.]. – 20.05.1998.
22. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» / Відомості Верховної Ради України. – Офіц. вид. – 2006. – № 27. – С. 990, стаття 230. – (Бібліотека офіційних видань).
23. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986: Верховна Рада України, офіційний веб-портал: Міжнародні документи (Рада Європи) [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/main?find=1&sp=i&user=c393&text=%F2%E2%E0%F0%E8%ED&x=10&y=5>.
24. *McGuill M. W.* Biological Effects of Blood Loss: Implications for Sampling Volumes and Techniques / M. W. McGill, A. N. Rowan // *ILAR J.* – 1989. – № 31 (4). – P. 5–20.
25. Experimental Trauma Models: An Update / M. Frink, H. Andruskow, Ch. Zeckey [et al.] // *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. – 2011. – 15 p. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://downloads.hindawi.com/journals/bmri/2011/797383.pdf>.
26. Experimental Models of Hemorrhagic Shock: A Review / A. Fülöp, Z. Turóczy, D. Garbaisz [et al.] // *European Surgical Research*. – 2013. – № 50. – P. 57–70.
27. *Hunt B. J.* Bleeding and coagulopathies in critical care / B. J. Hunt // *The New England Journal of Medicine*. – 2014. – V. 370. – P. 847–859.
28. *Баркаган З. С.* Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот. – Москва : Ньюдиамед, 2001. – 296 с.
29. *Peng N.* Progresses in understanding trauma-induced coagulopathy and the underlying mechanism / N. Peng, L. Su // *Chinese Journal of Traumatology*. – 2017. – V. 20 (3). – P. 133–136.
30. Updates in the management of severe coagulopathy in trauma patients / M. Lynn, I. Jeroukhimov, Y. Klein, U. Martinowitz // *Intensive Care Med*. – 2002. – № 28, Suppl 2. – P. S241–247.
31. *Mikhail J.* The trauma triad of death: hypothermia, acidosis, and coagulopathy / J. Mikhail // *AACN Clin Issues Crit Care Nurs*. – 1999. – № 10. – P. 85–94.
32. *Moore F. A.* The next generation in shock resuscitation / F. A. Moore, B. A. McKinley, E. E. Moore // *Lancet* 2004. – № 363. – P. 1988–1996.
33. *Martini W. Z.* The effects of hypothermia on fibrinogen metabolism and coagulation function in swine / W. Z. Martini // *Metabolism*. – 2007. – № 56. – P. 214–221.
34. Нужно ли совершенствовать технологии кровезамещения? / В. П. Шано, И. В. Гуменюк, И. В. Струкова, Е. З. Губиева // *Острые и неотложные состояния в практике врача*. – 2012. – № 2–3. – С. 25–33.
35. *Лескова Г. Ф.* Изменения состава фосфолипидов плазматических мембран кардиомиоцитов при геморагическом шоке / Г. Ф. Лескова, Г. Н. Крыжановский // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2011. – Т. 151, № 3. – С. 255–258.
36. *Лескова Г. Ф.* Изменения состава мембранных фосфолипидов в патогенезе нарушений функций митохондрий головного мозга при геморагическом шоке у кошек / Г. Ф. Лескова // *Патогенез*. – 2014. – Т. 12, № 4. – С. 17–20.

37. Андреева Н. Н. Состояние липидного обмена жизненно важных органов в постреперфузионном периоде и его модификация антигипоксантами : автореф. дис. на соискание науч. степени доктора биол. наук : спец. ВАК РФ 03.00.13 «Физиология» / Н. Н. Андреева. – Нижний Новгород, 2007 – 36 с.
38. Impairment of endothelium-dependent arterial relaxation by lysolecithin in modified low-density lipoproteins / K. Kugiyama, S. A. Kerns, J. D. Morrisett [et al.] // *Nature*. – 1990. – V. 344. – P. 160–162.
39. Kobayashi T. Mechanisms underlying the chronic pravastatin treatment-induced improvement in the impaired endothelium-dependent aortic relaxation seen in streptozotocin-induced diabetic rats / T. Kobayashi, T. Matsumoto, K. Kamata / *Br. J. Pharmacol.* – 2000. – V. 131. – P. 231–238.
40. Suenaga H. Lysophosphatidylcholine potentiates vascular contractile responses in rat aorta via activation of tyrosine kinase / H. Suenaga, K. Kamata // *Br. J. Pharmacol.* – 2002. – V. 35. – P. 789–799.
41. Colles S. M. Lysophosphatidylcholine-induced cellular injury in cultured fibroblasts involves oxidative events / S. M. Colles, Guy M. Chisolm // *The Journal of Lipid Research*. – 2000. – V. 41. – P. 1188–1198.
42. DFMG reverses proliferation and migration of vascular smooth muscle cells induced by co-culture with injured vascular endothelial cells via suppression of the TLR4-mediated signaling pathway / L. Cong, Y. Zhang, H. Huang [et al.] // *Molecular Medicine Reports*. – 2018. – V. 17 (4). – P. 5692–5699.
43. Kume N. Lysophosphatidylcholine, a component of atherogenic lipoproteins, induces mononuclear leukocyte adhesion molecules in cultured human and rabbit arterial endothelial cells / N. Kume, M. I. Cybulsky, M. A. Gimbrone, Jr // *J. Clin. Invest.* – 1992. – V. 90. – P. 1138–1144.
44. Братусь В. В. Воспаление и проатерогенные нарушения обмена липопротеинов: взаимосвязь и причинно-следственная зависимость / В. В. Братусь // *Украинский ревматологический журнал*. – 2002. – Т. 7, № 1. – С. 13–22.
45. Проказова Н. В. Влияние лизофосфатидилхолина на передачу трансмембранного сигнала внутрь клетки / Н. В. Проказова, Н. Д. Звездина, А. А. Коротаяева // *Биохимия*. – 1998. – Т. 63, № 1. – С. 38–46.
46. Schneiter R. The role of lipids in the biogenesis of integral membrane proteins / R. Schneiter, A. Toulmay // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2007. – V. 73, Iss. 6. – P. 1224–1232.
47. Protective effects of TES trioleate, an inhibitor of phospholipase A2, on reactive oxygen species and UVA-induced cell damage / S. N. Park, M. J. Kim, J. H. Ha [et al.] // *J. Photochem Photobiol B*. – 2016. – V. 164. – P. 30–35.
48. Лечебное воздействие липосом при геморрагическом шоке (экспериментальное исследование) / Г. Ф. Лескова, Г. Н. Крыжановский, В. И. Швец, Ю. М. Краснополянский // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. – 2012. – № 4. – С. 88–93.
49. Addition and Correction to Multifunctional Cytochrome c: Learning New Tricks from an Old Dog / D. Alvarez-Paggi, L. Hannibal, M. A. Castro [et al.] // *Chem. Rev.* – 2017. – V. 117 (23). – P. 14014–14014.
50. Ващенко В. И. Цитохром С как лекарственное средство: прошлое, настоящее, будущее / В. И. Ващенко, К. П. Хансон, П. Д. Шабанов // *Обзор клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 27–37.
51. Транзиторные нарушения сердечно-сосудистой системы у новорожденных / А. В. Сукало, А. К. Ткаченко, Е. К. Хрусталева [и др.] // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. – 2015. – № 3. – С. 5–11.
52. Зинченко В. А. Цитохром С в комплексной терапии больных с нарушением мозгового и коронарного кровообращения / В. А. Зинченко, Н. Д. Сидорова // *Клиническая мед.* – 1985. – Т. 63, № 9. – С. 49–51.
53. Туранов М. Ю. Цитохром С в терапии дыхательной недостаточности у больных хроническим бронхитом / М. Ю. Туранов // *Дыхательная недостаточность. Сборник научных трудов ММСИ*. – Москва, 1986. – С. 83–85.
54. Садфуранова Г. Ш. Эффективность железотерапии и комбинированного лечения больных железodefицитной анемией применением цитохрома С / Г. Ш. Садфуранова // *Анемия и анемические синдромы*. – 1991. – С. 92–98.
55. Бриккер В. Н. Применение цитохрома С для предупреждения фибрилляции желудочков при острой коронарной недостаточности в эксперименте и его влияние на дыхательную активность миокарда / В. Н. Бриккер, Е. И. Вольперт, И. Е. Ганелина // *Кардиология*. – 1970. – № 3. – С. 91–95.
56. Ramírez M. Multiple Organ Dysfunction Syndrome / M. Ramírez // *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*. – 2013. – V. 43 (10). – P. 273–277.
57. Rendy L. Multiple organ dysfunction syndrome (MODS) prediction score in multi-trauma patients / L. Rendy, H. B. Sapan, L. T. V. Kalesaran // *International Journal of Surgery Open*. – 2017. – V. 8. – P. 1–6.

Н. В. Добреля, Н. С. Гула, Т. А. Карацуба, О. С. Хромов

Перспективи використання ліпосомальної форми цитохрому С для поповнення гострої масивної крововтрати

Мета дослідження – вивчити вплив ліпосомальної форми цитохрому С (ліпохрому) на артеріальний тиск та гемостаз за умов гострої масивної крововтрати (ГМК).

Проведені дослідження показали, що ГМК з загальної сонної артерії в об'ємі 35 % від об'єму циркулюючої крові викликає розвиток декомпензованого геморагічного шоку, що характеризується

вираженою гіповолемією та загибеллю тварин протягом ($49,7 \pm 4,4$) хв. Розвиток шоку супроводжується різноспрямованими змінами коагуляційного гемостазу: у ранньому періоді спостерігаються ознаки гіпер-, а на пізніх етапах – гіпокоагуляції, що слід розцінювати як початок ДВЗ-синдрому. Спостерігався розвиток субкомпенсованого метаболічного ацидозу зі зменшенням напруги CO_2 та дефіцит буферних лугів в артеріальній крові.

Введення ліпосомальної форми цитохрому С в ізоволемічному об'ємі фізіологічного розчину через 5 хв після ГМК не викликало нормалізацію середнього артеріального тиску.

Введення ліпохрому через 30 хв після крововтрати призводило до 100 % виживання тварин упродовж всього періоду спостереження (60 хв), супроводжувалось вираженою стабілізацією гемодинаміки та значною мірою сприяло усуненню порушень гемостазу та запобігало розвитку декомпенсованого метаболічного ацидозу.

Доцільність використання ліпосомальної форми цитохрому С за гострої масивної крововтрати потребує подальшого вивчення.

Ключові слова: гостра масивна крововтрата, ліпосомальна форма цитохрому С

А. С. Хромов, Н. В. Добреля, Н. С. Гула, Т. А. Карацуба **Перспективы использования липосомальной формы цитохрома С при восполнении острой массивной кровопотери**

Цель исследования – изучить влияние липосомальной формы цитохрома С (липохрому) на артериальное давление и гемостаз при острой массивной кровопотере (ОМК).

Проведенные исследования показали, что ОМК из общей сонной артерии в объеме 35 % от объема циркулирующей крови вызывает развитие декомпенсированного геморрагического шока, характеризующегося выраженной гиповолемией и гибелью животных в течение ($49,7 \pm 4,4$) мин. Развитие шока сопровождается разнонаправленными изменениями коагуляционного гемостаза: в раннем периоде наблюдаются признаки гипер-, а на поздних этапах – гипкоагуляции, что следует расценивать как начало ДВС-синдрома. Наблюдалось развитие субкомпенсированного метаболіческого ацидоза с уменьшением напряжения CO_2 и дефицитом буферных оснований в артериальной крови.

Введение липосомальной формы цитохрома С в ізоволемическом объеме физиологического раствора через 5 мин после ОМК не вызвало нормализацию среднего артериального давления.

Введение липохрома через 30 мин после кровопотери приводило к 100 % выживаемости животных в течение всего периода наблюдения (60 мин), сопровождалось выраженной стабилизацией гемодинамики, способствовало устранению нарушений гемостаза и предотвращало развитие декомпенсированного метаболіческого ацидоза.

Целесообразность использования липосомальной формы цитохрома С при острой массивной кровопотере требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: острая массивная кровопотеря, липосомальная форма цитохрома С

N. V. Dobrelya, N. S. Gula, T. A. Karazuba, O. S. Khromov **Prospects of using the liposome encapsulated cytochrome C at replenishment of acute massive hemorrhage**

This study was aimed to investigate a haemostatic activity and correction of hemodynamic disorders of the liposome encapsulated cytochrome C (Lipochrom) in acute massive blood loss.

The received data showed that acute massive exsanguination from the common carotid artery above 35 % of blood volume resulted to the development of decompensated hemorrhagic shock with lowering of blood pressure accompanied by death of the animals within 49 min. The shock development was accompanied with the multidirectional changes in coagulation haemostasis: hypercoagulation in the early period and hypocoagulation in the later stages, which should be regarded as the onset of disseminated intravascular coagulation (DIC). The subcompensated metabolic acidosis was developed with decrease in CO_2 tension and lack of buffer bases in the arterial blood.

Infusion of the liposome encapsulated cytochrome C in saline isovolumic volume 5 min after hemorrhage does not have significant hemodynamic effects.

Infusion of the lipochrom 30 min after hemorrhage led to 100 % survival of animals throughout the follow-up period (60 min), has essential hemodynamic effects and contributed significantly to the elimination of hemostasis disorders, and prevents the development of decompensated metabolic acidosis.

An expediency of use of the liposome encapsulated cytochrome C in acute massive hemorrhage requires further studies.

Key words: acute massive blood loss, liposome encapsulated cytochrome C

Надійшла: 7 березня 2018 р.

Контактна особа: Хромов Олександр Станіславович, науковий співробітник, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057.
Тел.: + 38 0 44 456 02 88. E-mail: askhromov@ukr.net